

## PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
 US Department of Commerce  
 United States Patent and Trademark  
 Office, PCT  
 2011 South Clark Place Room  
 CP2/5C24  
 Arlington, VA 22202  
 ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
 in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 16 November 2000 (16.11.00)	
International application No. PCT/EP00/02699	Applicant's or agent's file reference 5402P168WO HO/pd
International filing date (day/month/year) 28 March 2000 (28.03.00)	Priority date (day/month/year) 16 April 1999 (16.04.99)
Applicant KANZ, Lothar et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
 13 October 2000 (13.10.00)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:  
 \_\_\_\_\_

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer  Juan Cruz
Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Telephone No.: (41-22) 338.83.38

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

10/019513

## PCT

REC'D 30 JUL 2001

WIPO PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)



Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5402P168WC HO/sw	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/02699	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 28/03/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 16/04/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/11		
Anmelder EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKL		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
  - ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit von dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  13/10/2000	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  27.07.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Masturzo, P  Tel. Nr. +31 70 340 2275  

**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-19                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-11                      eingegangen am                      30/05/2001    mit Schreiben vom                      28/05/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,                      Seiten:
- ☐ Ansprüche,                      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,                      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-6
	Nein: Ansprüche	7-11

2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
siehe Beiblatt

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: WO-A-9850527 (Biomira):

D2: WO-A-9711715 (Austin Research Institute).

Betr. Punkt V

1) Die vom Anmelder eingereichte gegenstreitige Argumente sind überzeugend. Deswegen werden die neuen Ansprüche 1-11 als neu laut Art 33(2) PCT anerkannt.

2) Wenn man als objektiv zu lösende Aufgabe der vorliegenden Anmeldung die Bereitung neuer Peptide aus dem Antigen MUC-1 betrachtet, muß man D1 und D2 als nächstliegender Stand der Technik betrachten. Der Anmelder hat funktionelle Versuche eingereicht, wovon man beobachten kann, daß die Peptide des Anspruchs 1 in der Tat bei der Aufregung der T-Zellen wirksam sind. Da die Struktur der Peptide von Ansprüchen 1 und 2 im Stand der Technik weder erwähnt noch hingedeutet wird, kann eine erfinderische Tätigkeit laut Art. 33(3) PCT für Ansprüche 1-11 anerkannt werden.

3) Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 7-11 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

Betr. Punkt VI

Patent  
WO-A-0006723

Veröffentlicht  
10-2-2000

Prioritätsdatum  
30-7-1998

Betr. Punkt VIII

Der Anmelder hat die laut Art. 6 und Regel 6 PCT beanstandeten Ausdrücke gestrichen. Daher werden Ansprüche 1-11 laut Art. 6 und Regel 6 PCT als deutlich und zulässig anerkannt.

Patentansprüche

1. Peptid, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID-Nr.: 1:

Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val

aufweist.

2. Peptid, das von dem MUC-1-Gen abgeleitet ist, dadurch gekennzeichnet, daß es sich von dem Signalpeptid ableitet, insbesondere die Sequenz SEQ ID-Nr.: 2:

Leu Leu Leu Leu Thr Val Leu Thr Val

aufweist.

3. Nukleinsäure, codierend für ein Peptid nach Anspruch 1 und/oder Anspruch 2.
4. Nukleinsäure nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einem Expressionsvektor enthalten ist.

5. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Peptid nach Anspruch 1 oder 2 oder eine Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 enthält.
6. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Peptid nach Anspruch 1 oder 2 und eine Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 enthält.
7. Verwendung einer Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 im Rahmen einer Gentherapie.
8. Verwendung einer Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 zur Transformation oder Transfektion von Zellen *in vitro*.
9. Verwendung mindestens eines Peptides oder einer Nukleinsäure nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Auslösung einer Immunreaktion im Zusammenhang mit einer Tumorthherapie oder mit einer gegenüber der Entstehung eines Tumors vorbeugenden Behandlung.
10. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 9 in Kombination mit einem Pan-HLA-DR-bindenden Peptid.
11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eines der Peptide oder eine der Nukleinsäuren zusammen mit Antigen-präsentierenden Zellen, insbesondere dendritischen Zellen, inkubiert und erst dann in einen Organismus eingebracht wird, aus dem die Antigen-präsentierenden Zellen oder deren Vorläuferzellen zuvor entnommen wurden.



**Translation**

PATENT COOPERATION TREATY

10/019513

5

**PCT**

**INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT**

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 5402P168WO HO/pd	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP00/02699	International filing date (day/month/year) 28 March 2000 (28.03.00)	Priority date (day/month/year) 16 April 1999 (16.04.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15/11, C07K 14/47, A61K 48/00		
Applicant EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKLINIKUM		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.  
  
☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).  
  
 These annexes consist of a total of 2 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:
  - I ☒ Basis of the report
  - II ☐ Priority
  - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
  - IV ☐ Lack of unity of invention
  - V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
  - VI ☒ Certain documents cited
  - VII ☐ Certain defects in the international application
  - VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 13 October 2000 (13.10.00)	Date of completion of this report 27 July 2001 (27.07.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

## I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to the report since they do not contain amendments.):

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description, pages 1-19, as originally filed,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☒ the claims, Nos. \_\_\_\_\_, as originally filed,  
Nos. \_\_\_\_\_, as amended under Article 19,  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
Nos. 1-11, filed with the letter of 28 May 2001 (28.05.2001),  
Nos. \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_, as originally filed,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the demand,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_,  
sheets/fig \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_.

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

3. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-11	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-6	YES
	Claims	7-11	NO

**2. Citations and explanations**

This report makes reference to the following documents:

D1: WO-A-98/50527 (Biomira)

D2: WO-A-97/11715 (Austin Research Institute).

1. The refuting arguments submitted by the applicant are convincing. Consequently, the new Claims 1-11 are recognised to be novel under PCT Article 33(2).

2. If the present application is considered to address the objective problem of providing novel peptides from the MUC-1 antigen, D1 and D2 must be considered the closest prior art. The applicant has submitted functional assays which show that the peptides as per Claim 1 are actually effective to activate T-cells. Since the structure of the peptides as per Claims 1 and 2 is neither mentioned nor suggested in the prior art, an inventive step can be recognised for Claims 1-11 (PCT Article 33(3)).

5. In the PCT Contracting States, there are no uniform criteria for assessing the industrial applicability of Claims 7-11 in their present form. Patentability can also depend on the wording of the claims. The EPO, for example, does not recognise the industrial applicability of claims

to the use of a compound in a medical treatment; it does, however, allow claims to the first use of a known compound in a medical treatment or to the use of such a compound in the manufacture of a drug for a new medical treatment.

# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/02699

## VI. Certain documents cited

### 1. Certain published documents (Rule 70.10)

Application No. Patent No.	Publication date (day/month/year)	Filing date (day/month/year)	Priority date (valid claim) (day/month/year)
WO-A-0006723	10 February 2000 (10.02.2000)		30 July 1998 (30.07.1998)

### 2. Non-written disclosures (Rule 70.9)

Kind of non-written disclosure	Date of non-written disclosure (day/month/year)	Date of written disclosure referring to non-written disclosure (day/month/year)

**VIII. Certain observations on the international application**

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The applicant has deleted the expressions to which objections had been raised under PCT Article 6 and PCT Rule 6. Consequently, Claims 1-11 are recognised to be clear and permissible under PCT Article 6 and PCT Rule 6.

# PCT

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>5402P168W0 HO/pd</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 00/ 02699</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>28/03/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>16/04/1999</b>
Anmelder  <b>EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKL</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

### 1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☒ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

### 4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☒ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**PEPTID AUS ANTIGEN MUC-1 ZUR AUSLÖSUNG EINER IMMINREAKTION GEGEN TUMORZELLEN**

### 5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der Zeichnungen ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. ---

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

☐ keine der Abb.





## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGEZEICHNETE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	<p>P BROSSART ET AL.: "Identification of HLA-A2-restricted T-cell epitopes derived from the MUC1 tumor antigen for broadly applicable vaccine therapies"</p> <p>BLOOD., Bd. 93, Nr. 12, 15. Juni 1999 (1999-06-15), Seiten 4309-4317, XP002147432 W.B.SAUNDERS COMPAGNY, ORLANDO, FL., US ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument</p> <p>-----</p>	1-10

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

EP 00/02699

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9850527	A	12-11-1998	AU 7371298 A EP 0986636 A	27-11-1998 22-03-2000
DE 19516673	A	31-10-1996	NONE	
WO 9711715	A	03-04-1997	AU 7079396 A AU 707223 B AU 7079496 A WO 9711963 A CA 2233447 A EP 0859627 A JP 2000506493 T	17-04-1997 08-07-1999 17-04-1997 03-04-1997 03-04-1997 26-08-1998 30-05-2000
WO 0006723	A	10-02-2000	AU 5062999 A	21-02-2000

PCT

ORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro



INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>7</sup> :</b> C12N 15/11, C07K 14/47, A61K 48/00	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:</b> WO 00/63363 <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:</b> 26. Oktober 2000 (26.10.00)
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP00/02699 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 28. März 2000 (28.03.00)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 199 17 195.5      16. April 1999 (16.04.99)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKLINIKUM [DE/DE]; Geissweg 3, D-72076 Tübingen (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> KANZ, Lothar [DE/DE]; Im Schönblick 24, D-72076 Tübingen (DE). RAMMENSEE, Hans, Georg [DE/DE]; Sommerhalde 3, D-72070 Tübingen-Unterjesingen (DE). BRUGGER, Wolfram [DE/DE]; Bismarckstrasse 57/1, D-72127 Kusterdingen (DE). STEVANOVIC, Stefan [DE/DE]; Auf der Burg 3, D-72074 Tübingen (DE). BROSSART, Peter [DE/DE]; Laura-Schradin-Weg 23, D-72762 Reutlingen (DE).  <b>(74) Anwälte:</b> OTTEN, Hajo usw.; Witte, Weller & Partner, Postfach 105462, D-70047 Stuttgart (DE).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist; Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
<b>(54) Title:</b> PEPTIDE FROM ANTIGEN MUC-1 FOR TRIGGERING AN IMMUNE RESPONSE TO TUMOR CELLS <b>(54) Bezeichnung:</b> PEPTID AUS ANTIGEN MUC-1 ZUR AUSLÖSUNG EINER IMMUNREAKTION GEGEN TUMORZELLEN <b>(57) Abstract</b> <p>The invention relates to a peptide for triggering an immune response to tumor cells. Said peptide has an optionally modified fragment of the protein that is encoded by the gene MUC-1. Said protein triggers an HLA-A2-restricted immune response.</p> <b>(57) Zusammenfassung</b> <p>Es wird ein Peptid zur Auslösung einer Immunreaktion gegen Tumorzellen bereitgestellt, das ein ggf. modifiziertes Fragment des durch das Gen MUC-1 codierten Proteines aufweist, das eine HLA-A2-restringierte Immunreaktion auslösen kann.</p>		

## PEPTID AUS ANTIGEN MUC-1 ZUR AUSLÖSUNG EINER IMMINREAKTION GEGEN TUMORZELLEN

Die vorliegende Erfindung betrifft ein von dem MUC-1-Gen abgeleitetes Peptid, durch das eine HLA-A2-restringierte Immunreaktion gegen Tumorzellen auslösbar ist.

Brossart et al. zeigen in einem Abstract zu einem auf dem 40. jährlichen Treffen der American Society of Hematology, 1998, gehaltenen Vortrag die Möglichkeit auf, ein derartiges Peptid von dem MUC-1-Gen abzuleiten, ohne jedoch die Sequenz eines von ihnen getesteten Peptides oder die Lokalisation der Sequenz eines Peptides, das nicht von dem Tandem-Repeat-Bereich von MUC-1 abgeleitet ist, zu erwähnen.

Peptide zur Auslösung einer Immunreaktion gegen Tumorzellen sind bspw. auch in der Publikation von Finn, O.J., et al., (1995) "MUC-1 Epithelial Tumor Mucin-Based Immunity and Cancer

Vaccines", Immunol Rev 145, Seiten 61 bis 89, erwähnt, allerdings ebenfalls ohne Angabe von Sequenzinformationen.

Unter einer Immunreaktion wird bspw. die Zerstörung von Zellen durch solche T-Zellen verstanden, die wegen ihrer Fähigkeit, andere Zellen abzutöten, auch als zytotoxische T-Zellen bezeichnet werden. Zur Auslösung einer derartigen Immunreaktion durch zytotoxische T-Zellen müssen den T-Zellen dazu von einem MHC-Molekül auf der Zelloberfläche fremde Proteine z.B. infolge einer Virusinfektion präsentiert werden.

Diese MHC-Moleküle sind Peptidrezeptoren, die normalerweise Peptide innerhalb der Zelle binden, um sie zu der Zelloberfläche zu transportieren, wo der Komplex aus Peptid und MHC-Molekül durch T-Zellen erkannt werden kann. In normalen Zellen werden die durch MHC-Moleküle gebundenen Peptide von den üblichen zelleigenen Proteine abgeleitet. Während ihrer Differenzierung in einem Organismus werden T-Zellen tolerant gegenüber Komplexen von eigenen Peptiden mit eigenen MHC-Molekülen. Somit kann jedes neue Peptid, das später erscheint, z.B. ein solches, das durch die Infektion mit einem Virus von einer Zelle produziert wird, von T-Zellen erkannt werden.

Es gibt zwei Klassen von MHC-Molekülen, von denen diejenigen, die mit zytotoxischen T-Zellen wechselwirken, der Klasse I angehören. Klassische humane Klasse I-Moleküle sind HLA-A, B und C, wobei HLA-A2 eine Unterklasse der HLA-A-Moleküle darstellt.

Ist das Zustandekommen einer Immunreaktion von dem Vorhandensein eines bestimmten MHC-Moleküles, z.B. HLA-A2, abhängig, so spricht man von einer MHC-restringierten, z.B. einer HLA-A2-

restringierten Immunreaktion. Es gibt vereinzelt auch T-Zell-Reaktionen, die unabhängig von MHC-Molekülen stattfinden. Man spricht dann von MHC-unrestringierten Immunreaktionen.

In der eingangs erwähnten Publikation von Finn et al. wurde zur Behandlung eines Tumorpatienten vorgeschlagen, eine solche MHC-unrestringierte Immunreaktion gegen ein Glykoprotein auszulösen, das durch das Gen MUC-1 codiert wird und auf der Oberfläche von Zellen vorkommt. Ziel ist dabei das Hervorrufen einer effektiven Immunantwort mit lebenslanger Immunität.

Das durch das Gen MUC-1 codierte Protein, das ebenfalls MUC-1 genannt wird, wird von normalen Epithelzellen meistens polarisiert so exprimiert, daß es dem Immunsystem normalerweise nicht zugänglich ist, wie bspw. im Darm, wo es auf der apikalen Seite der Epithelzellen, d.h. ins Darmlumen hineinragend exprimiert wird.

Auf Tumorzellen wird dagegen MUC-1 nicht polarisiert exprimiert, sondern bedeckt die gesamte Zelle. Das Level der Expression ist bei Tumorzellen höher als bei normalen Zellen, aber die Moleküle liegen bei Tumorzellen unvollständig glykosiliert vor, d.h. die Seitenketten aus Zuckermolekülen weisen eine verkürzte Struktur gegenüber MUC-1 auf, das von gesunden Zellen hergestellt wird. Die unvollständige Glykosilierung führt dazu, daß Epitope auf dem Protein-Anteil von MUC-1, die normalerweise durch Zucker-Seitenketten maskiert vorliegen, auf Tumorzellen dem Immunsystem zugänglich sind. Somit kann das Immunsystem dieses unterglykosilierte MUC-1 von normalem, nicht unterglykosiliertem MUC-1 unterscheiden.

Neben den Seitenketten aus Zuckermolekülen besteht ein weiteres wesentliches Strukturmerkmal von MUC-1 in den sogenannten Tandem-Repeats. Dabei handelt es sich um Abfolgen aus jeweils 20 Aminosäureresten, die sich in identischer oder ähnlicher Weise ca. 20 bis 125 Mal in dem MUC-1-Molekül wiederholen.

Zur Auslösung einer effektiven Immunreaktion durch T-Zellen sind nun aber Co-Stimulatoren erforderlich, zu denen insbesondere die sogenannten dendritischen Zellen zählen, die von außen angebotene Proteine aufnehmen und nach deren Prozessierung zu Peptiden so präsentieren können, daß zytotoxische T-Zellen dadurch aktiviert werden können. Finn et al. schlagen daher vor, synthetische Peptide, die die MUC-1-Tandem-Repeats repräsentieren, zusammen mit einem Adjuvans, das dendritische Zellen anlockt, zu injizieren. Bei einem Adjuvans handelt es sich um eine Substanz, die bei gemeinsamer Injektion mit einem Stoff, gegen den eine Immunreaktion ausgelöst werden soll, die Antwort des Immunsystems auf diesem Stoff unspezifisch verstärkt. Durch eine derartige Impfung soll eine MHC-unrestringierte T-Zellreaktion gegen die Tandem-Repeats erhalten werden. Es wird sogar vorgeschlagen, in den synthetischen Peptiden Aminosäuren, die eine MHC-Klasse-I-Bindung vermitteln könnten, durch andere zu ersetzen, damit keine MHC-restringierten T-Zellen durch eine Präsentation der Peptide durch MHC-Klasse-I-Moleküle entstehen können.

Einerseits kann durch die Verhinderung einer MHC-restringierten Immunantwort das Problem einer möglichen Autoimmunität verringert werden, andererseits besteht ein großer Nachteil in der geringeren Effizienz einer MHC-unrestringierten Immunantwort gegenüber einer MHC-restringierten. Somit sind auch die Chan-

cen, mit einer MHC-unrestringierten Immunantwort einen Tumor zum Verschwinden zu bringen, geringer als mit einer MHC-restringierten Immunantwort.

Die Erfinder der vorliegenden Anmeldung haben daher anlässlich des eingangs erwähnten Vortrages vorgeschlagen, eine MHC-restringierte Immunantwort gegen MUC-1-exprimierende Zellen auszulösen. Sie berichten, daß hierzu die bekannte MUC-1-Aminosäuresequenz mittels einer Computeranalyse nach HLA-A2-bindenden Motiven abgesucht wurde. Peptide mit hoher Bindungswahrscheinlichkeit wurden identifiziert, synthetisiert und daraufhin untersucht, ob sie mit Hilfe von dendritischen Zellen in vitro zytotoxische T-Zellen induzieren können. Die so erzeugten zytotoxischen T-Zellen entwickelten eine Antigen-spezifische HLA-A2-restringierte zytotoxische Aktivität gegen diejenigen Zielzellen, die zuvor mit dem jeweiligen Peptid inkubiert wurden, mit dem die zytotoxischen T-Zellen aktiviert wurden, oder gegen MUC-1-exprimierende Tumorzellen.

Vor diesem Hintergrund ist es Aufgabe der vorliegenden Erfindung, mindestens eine Aminosäuresequenz für ein derartiges Peptid zur Auslösung einer Immunreaktion gegen Tumorzellen bereitzustellen.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß dadurch gelöst, daß das Peptid die Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 und/oder eine Sequenz, die sich von dem Signalpeptid ableitet, insbesondere die Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 aus dem beiliegenden Sequenzprotokoll und/oder eine modifizierte Form der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 und/oder der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 aufweist.



Die der Erfindung zugrundeliegende Aufgabe wird auf diese Weise vollkommen gelöst.

Mit Hilfe des erfindungsgemäßen Peptides können zytotoxische T-Zellen generiert werden, die eine Antigen-spezifische MHC-restringierte zytotoxische Aktivität gegen MUC-1 exprimierende Tumorzellen entwickeln und diese zerstören.

Somit eröffnet dieses Peptid die Möglichkeit einer wirkungsvollen Tumorthherapie, bei der die in Tumorpatienten häufig beobachtete Unterdrückung einer Immunreaktion gegen Tumorzellen umgekehrt werden kann.

Bei dem Peptid SEQ ID-Nr.: 1 handelt es sich um ein Nonapeptid, das von der Aminosäuresequenz eines Tandem-Repeats von MUC-1 abgeleitet ist, und das sich von einem anderen, früher beschriebenen Peptid u.a. durch zwei Aminosäuren unterscheidet, von denen eine eine Bindung des Peptides an das HLA-A2-Molekül ermöglicht.

Wie den Ausführungsbeispielen zu entnehmen ist, ist es den Erfindern gelungen, nachzuweisen, daß mittels des Nonapeptides sehr wirksam zytotoxische T-Zellen erzeugt werden können, die die Tumorzellen, die MUC-1 herstellen, in einer MHC-Klasse-I-restringierten Weise abtöten. Diese Tumorzellen präsentieren nämlich über MHC-Klasse-I-Moleküle bestimmte Fragmente sämtlicher Proteine, die von ihnen hergestellt werden. Erkennen nun zytotoxische T-Zellen das von einem MHC-Klasse-I-Molekül präsentierte Peptid, durch das sie ursprünglich aktiviert wurden, so töten sie diese Zelle ab. Somit bietet dieses Peptid, das von MHC-Klasse-I-Molekülen MUC-1 exprimierter Zellen präsen-

tiert wird, die vorteilhafte Möglichkeit, gezielt eine Immunreaktion gegen Tumore auszulösen, die MUC-1 herstellen.

Besonders überraschend war, daß auch mit Hilfe eines Peptides, dessen Sequenz sich nicht in dem reifen MUC-1-Protein auf der Zelloberfläche sondern nur in dem Signalpeptid des unreifen Proteines findet, zytotoxische T-Zellen induziert werden können, die eine MHC-restringierte zytotoxische Aktivität gegen MUC-1 exprimierende Tumorzellen aufweisen.

Unter einem Signalpeptid des unreifen Proteines versteht man dabei ein Peptid, das durch das Gen MUC-1 codiert wird und das in der Zelle in einem Stück mit dem restlichen Protein hergestellt, aber im Laufe der Prozessierung im Endoplasmatischen Retikulum der Zellen von diesem abgespalten wird.

Bei dem Peptid SEQ ID-Nr.: 2 handelt es sich um ein Beispiel für ein Nonapeptid, das von der Aminosäuresequenz des Signalpeptides von MUC-1 abgeleitet ist. Dieses Peptid führt zu einer effektiven Immunreaktion gegen MUC-1 herstellende Tumorzellen. Die Möglichkeit, zytotoxische T-Zellen zu erzeugen, die gegen ein weiteres von MHC-1-Molekülen präsentiertes Peptid gerichtet sind, hat den Vorteil, daß die Immunreaktion gegen Tumorzellen noch weiter gesteigert werden kann, indem gleichzeitig zytotoxische T-Zellen eingesetzt werden, die sich gegen beide von MHC-1-Molekülen präsentierte Peptide richten.

Darüber hinaus kann ein Signalpeptid auch von denjenigen MUC-1 herstellenden Tumorzellen durch ein MHC-Klasse-I-Molekül präsentiert werden, die infolge einer Entartung über kein funktionsfähiges System verfügen, das im Zytosol der Zelle erzeugte

Peptide, die durch MHC-Klasse-I-Moleküle präsentiert werden sollen, in das Endoplasmatische Retikulum (ER) transportiert. Im ER werden die Peptide nämlich erst mit den MHC-Klasse-I-Molekülen zusammengebaut und erst dann auf die Zelloberfläche gebracht. Da das Signalpeptid aber erst im ER abgespalten wird, ist zu seiner MHC-Klasse-I-vermittelten Präsentation kein Transport ins ER notwendig. Somit kann sich eine Immunreaktion, die mittels des Peptides mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 ausgelöst wurde, gegen eine größere Anzahl von Tumorzellen richten als eine Immunreaktion, die durch Peptide ausgelöst wurde, die sich nicht von dem MUC-1 Signalpeptid ableiten.

Auch modifizierte Formen der Peptide SEQ ID-Nr.: 1 und/oder 2 können zu der gewünschten Immunantwort führen.

Dabei wird unter modifiziert im Sinne der Erfindung jede chemische, enzymatische oder sonstige Veränderung des Peptides verstanden. Dies kann bspw. schon bei der Herstellung des Peptides oder später durch das Entfernen oder Hinzufügen einzelner Aminosäure-Reste, den Austausch einzelner Aminosäure-Reste, aber auch durch die chemische Veränderung einzelner Aminosäure-Reste durch das Anhängen bestimmter chemischer Gruppen erfolgen.

In einer weiteren bevorzugten Ausgestaltung betrifft die Erfindung eine Nukleinsäure, die einen Sequenzabschnitt umfaßt, der für mindestens ein erfindungsgemäßes Peptid codiert. Darüber hinaus weist die Nukleinsäure ggf. weitere Sequenzen auf, die zur Expression der dem Peptid entsprechenden Nukleinsäure-Sequenz notwendig sind. Die verwendete Nukleinsäure kann in einem Vektor enthalten sein, der geeignet ist, die Expression der

dem Peptid entsprechenden Nukleinsäuresequenz in einer Zelle zu ermöglichen.

Eine derartige Nukleinsäure hat den Vorteil, daß sie chemisch stabiler und unempfindlicher ist als Peptide. Die Handhabung ist daher einfacher als die der Peptide, und die Lagerfähigkeit von Nukleinsäuren ist nahezu unendlich. Sie sind chemisch und/oder molekularbiologisch sehr günstig und im Prinzip in unbegrenzten Mengen herzustellen. Eventuell zur Expression notwendige Nukleinsäuresequenzen haben ebenso wie ein Vektor, der die Nukleinsäuren enthält, den Vorteil, daß es dadurch möglich ist, große Mengen der Peptide sehr kostengünstig durch zelluläre Expressionssysteme mit Hilfe der Nukleinsäuren herzustellen. Die Nukleinsäuren können aber auch dazu verwendet werden, Antigen-präsentierende Zellen, insbesondere dendritische Zellen, so zu transformieren, daß sie die entsprechenden Peptide selbst herstellen und dann mittels MHC-1-Molekülen zytotoxischen T-Zellen bzw. deren Vorläuferzellen präsentieren. Vorteilhaft ist dabei, daß die Präsentation der entsprechenden Peptide durch die Antigen-präsentierenden Zellen längerfristig erfolgt als bei der Präsentation von Peptiden, die lediglich von außen angeboten werden.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft eine pharmazeutische Zusammensetzung, die ein erfindungsgemäßes Peptid oder eine erfindungsgemäße Nukleinsäure in einer eine MHC-1-restringierte Immunantwort auslösenden wirksamen Menge enthält.

Dazu können die Peptide und/oder Nukleinsäuren in den jeweils angemessenen üblichen Galeniken zubereitet sein. Im Falle von Peptiden könnten dies z.B. Zubereitungen sein, die üblicherwei-

se für Impfungen verwendet werden, und ein Adjuvans enthalten. Im Falle von Nukleinsäuren ist auch eine Zubereitung mit Liposomen oder Vesikeln möglich. Durch eine entsprechende pharmazeutische Zubereitung ist es möglich, Organismen direkt zu behandeln, ohne ihnen vorher Antigen-präsentierende Zellen bzw. deren Vorläuferzellen entnehmen zu müssen, um diese zunächst zu züchten und sie nach Behandlung mit Peptiden oder Nukleinsäuren in den Patienten einzubringen. Mittels einer entsprechenden pharmazeutischen Zubereitung kann eine Tumorbehandlung in Form einer Impfung erfolgen.

Ein weiterer Aspekt der Erfindung betrifft die Verwendung einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure im Rahmen einer Gentherapie.

Dabei kann die Gentherapie in Form der oben bereits beschriebenen Transformation von Antigen-präsentierenden Zellen, insbesondere dendritischen Zellen, erfolgen, die oder deren Vorläuferzellen zuvor aus dem Körper eines zu behandelnden Organismus entnommen wurden, um nach der Transformation wieder in den Körper eingebracht zu werden. Gegenüber der Verwendung von Peptiden ist dabei, wie bereits erläutert, die längeranhaltende Präsentation von Vorteil.

Eine weitere Möglichkeit besteht darin, die Nukleinsäure so in den Körper einzubringen, daß sie selektiv von Antigen-präsentierenden Zellen, insbesondere dendritischen Zellen, aufgenommen und exprimiert wird. Diese Verwendung hat den Vorteil, daß außer der Verabreichung keine weiteren Maßnahmen, wie bspw. die Anzucht und selektive Vermehrung entnommener dendritischer Zellen bzw. deren Vorläuferzellen, notwendig sind.

Die Erfindung betrifft ferner die Verwendung einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure zur Transformation oder Transfektion von Zellen in vitro. Der Einsatz der Nukleinsäure in vitro hat den Vorteil, daß Verfahren, wie bspw. die Elektroporation und/oder Hilfsstoffe wie bspw. Calciumphosphat oder DEAE-Dextran, verwendet werden können, die die Aufnahme von Nukleinsäuren in Zellen wesentlich erleichtern und verbessern, die aber in vivo nicht einsetzbar sind.

Dabei können, wie bereits erwähnt, Antigen-präsentierende Zellen, insbesondere dendritische Zellen, behandelt werden, die bzw. deren Vorläuferzellen aus einem Patienten entnommen wurden und die später wieder in den Patienten eingebracht werden.

Ein weiterer Aspekt der vorliegenden Erfindung ist die Verwendung mindestens eines erfindungsgemäßen Peptides oder einer erfindungsgemäßen Nukleinsäure zur Auslösung einer Immunreaktion im Zusammenhang mit einer Tumorthherapie oder mit einer gegenüber der Entstehung eines Tumors vorbeugenden Behandlung. Vorteilhaft ist dabei, daß die bei einer Tumorerkrankung häufig beobachtete Immunsuppression und Toleranz gegenüber MUC-1 durch die erfindungsgemäße Verwendung der Peptide oder Nukleinsäuren umgekehrt werden kann. Darüber hinaus kann die erfindungsgemäße Verwendung zusätzlich zu etablierten Tumorthapien eingesetzt werden.

Eine vorbeugende Behandlung ist vor allem bei Personen vorteilhaft, die, bspw. erblich bedingt oder weil sie früher bereits einen Tumor hatten, ein erhöhtes Risiko haben, an einem Tumor zu erkranken.

In einer Weiterbildung erfolgt die Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide oder Nukleinsäuren in Kombination mit einem Pan-HLA-DR-bindenden Peptid.

Vorteilhaft bei der Verwendung eines solchen Pan-HLA-DR-bindenden Peptides ist, daß die Antigen-spezifische zytotoxische Aktivität der generierten T-Zellen verstärkt wird.

In einer Weiterbildung wird mindestens eines der erfindungsgemäßen Peptide oder Nukleinsäuren zusammen mit Antigen-präsentierenden Zellen, insbesondere dendritischen Zellen, inkubiert und erst dann in einen Organismus eingebracht, aus dem die Antigen-präsentierenden Zellen oder deren Vorläuferzellen zuvor entnommen wurden.

Der Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, daß der Erfolg beim Auslösen einer Immunreaktion auf diese Art und Weise gesicherter und kontrollierbarer ist als bei der Injektion eines Peptides zusammen mit einem Adjuvans, bei der die Immunreaktion einmal stärker und einmal schwächer ausfallen kann. Gerade bei einer Tumorthherapie sollte man jedoch den Erfolg beim Auslösen einer Immunreaktion sicherstellen können, um nicht durch eine ineffektive Behandlung möglicherweise wertvolle Zeit zu verlieren.

Es versteht sich, daß die vorstehend genannten und die nachstehend noch zu erläuternden Merkmale nicht nur in der jeweils angegebenen Kombination, sondern auch in anderen Kombinationen oder in Alleinstellung verwendbar sind, ohne den Rahmen der vorliegenden Erfindung zu verlassen.

Ausführungsbeispiele der Erfindung werden in der nachfolgenden Beschreibung dargestellt und erläutert.

Beispiel 1      Induktion von Antigen-spezifischen zyto-  
toxischen T-Zellen unter Verwendung von Pepti-  
den und dendritischen Zellen

1.1 Bereitstellung von dendritischen Zellen

Wie bspw. bei Brossart, P., et al., Cancer Res 58 (1998), Seiten 732 ff., beschrieben, wurden zunächst mononukleäre Zellen aus peripherem Blut durch Ficoll/Paque (Gibco-BRL, Grand Island, NY) Dichtegradienten-Zentrifugation aus buffy coat-Präparationen von heparinisiertem Blut dreier gesunder Spender isoliert. Die Zellen wurden in Zellkulturschalen in RP10-Medium ausgesät. Nach zwei Stunden bei 37°C wurden die nicht anhaftenden Zellen entfernt und die anhaftenden Blutmonozyten in RP10-Medium kultiviert, das folgende Zytokinzusätze enthielt: humanes rekombinantes GM-CSF (Leukomax, Sandoz, 100 ng/ml), IL-4 (Genzyme, 1000 IU/ml), und TNF- $\alpha$  (Genzyme, 10 ng/ml). Nach sieben-tägiger Kultivierung zeigten die Zellen in der FACS-Analyse eine starke Expression der für den Phänotyp reifer dendritischer Zellen charakteristischen Oberflächenmarker MHC Klasse I und II, CD83, CD80, CD86, CD40 und CD54 und wurden somit als dendritische Zellen identifiziert.

1.2 Identifizierung geeigneter Peptide

Zur Identifizierung von Peptiden, die mit einer hohen Wahrscheinlichkeit durch HLA-A2 präsentiert werden, wurde zunächst die durch das Gen MUC-1 codierte Aminosäuresequenz mit Hilfe



eines Computerprogrammes auf potentiell HLA-A\*0201 (ein bestimmter HLA-A2-Typ) bindende Peptid-Motive abgesucht, wie es bspw. in Rammensee, H.G., et al., Landes Bioscience, Austin, Texas, USA (1997), beschrieben ist.

Die ausgesuchten Sequenzen und Kontrollsequenzen sowie ein PAN-HLA-DR-bindendes Peptid wurden unter Verwendung von Standard Fmoc-Chemie auf einem Peptidsynthesizer synthetisiert.

### 1.3 Induktion zytotoxischer T-Zellen

$5 \times 10^5$  dendritische Zellen aus 1.1. wurden zwei Stunden lang mit 50  $\mu\text{g/ml}$  synthetischem Peptid aus 1.2 inkubiert, gewaschen und mit  $2,5 \times 10^6$  autologen, d.h. von denselben Spendern abstammenden, mononukleären Zellen aus peripherem Blut in RP10-Medium inkubiert. Die dendritischen Zellen wurden teilweise zusätzlich zu den Kontrollpeptiden und den potentiell HLA-A2-bindenden Peptiden mit 50  $\mu\text{g/ml}$  eines PAN-HLA-DR-bindenden Peptides inkubiert, das ein T-Helfer-Epitop darstellt.

Nach siebentägiger Kultivierung wurden die Zellen erneut stimuliert, indem autologe, mit dem synthetischen Peptid aus 1.2 vorinkubierte mononukleäre Zellen aus peripherem Blut zugefügt wurden. Am ersten, dritten und fünften Tag wurde jeweils 1 ng/ml humanes rekombinantes IL-2 (Genzyme) zugesetzt. Das Zytokin IL-2 ist zur Kultivierung und Vermehrung von zytotoxischen T-Zellen notwendig. Insgesamt wurde bis zu dreimal in wöchentlichem Abstand stimuliert.

#### 1.4 Nachweis zytotoxischer T-Zell-Aktivität

T2-Zellen, die sich dadurch auszeichnen, daß sie HLA-A2 herstellen, aber über diese MHC-Klasse-I-Moleküle keine selbst synthetisierten Peptide präsentieren können, wurden zwei Stunden lang mit 50 µg/ml von synthetischem Peptid aus 1.2 vorinkubiert und eine Stunde lang bei 37°C mit [<sup>51</sup>Cr]-Natriumchromat in RP10 markiert. Jeweils 10<sup>4</sup> dieser Zellen wurden in je eine Vertiefung einer 96-Well-Platte übertragen. Zuvor nach 1.3 generierte zytotoxische T-Zellen wurden zugesetzt, so daß jeweils ein Endvolumen von 200 µl pro Well erreicht wurde. Anschließend wurde vier Stunden bei 37°C inkubiert. Wenn nun die zytotoxischen T-Zellen die zuvor mit <sup>51</sup>Cr markierten Zellen abtöten, so lysieren sie diese Zellen, und das in den Zellen enthaltene <sup>51</sup>Cr wird freigesetzt. Die freigesetzte Radioaktivität wird am Ende des Versuchs in den abgenommenen Zellüberständen durch Zählen in einem β-Counter bestimmt. Somit erhält man ein Maß für die zytotoxische Aktivität der T-Zellen.

#### 1.5 Peptide, die eine HLA-A2-restringierte Immunantwort auslösen

Zwei der synthetisierten, von der Sequenz des MUC-1-Genes abgeleitete Peptide waren in dem zuvor beschriebenen Verfahren in der Lage, zytotoxische T-Zellen mit Hilfe von dendritischen Zellen in vitro zu induzieren. Dabei handelt es sich um die beiden Peptide mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 und der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 aus dem Sequenzprotokoll. Die zytotoxischen T-Zellen, die unter Verwendung des Peptides mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 induziert wurden, konnten spezifisch T2-Zellen abtöten, die mit genau diesem Peptid vorbehandelt wurden, während

sie nicht in der Lage waren, T2-Zellen abzutöten, die mit anderen Peptiden vorbehandelt waren. Umgekehrt waren zytotoxische T-Zellen, die unter Verwendung anderer Peptide induziert wurden, nicht in der Lage, T2-Zellen abzutöten, die mit dem Peptid mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 vorbehandelt waren. Entsprechend verhielt es sich mit zytotoxischen T-Zellen, die unter Verwendung des Peptides mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 induziert wurden. Diese Zellen konnten nur solche T2-Zellen abtöten, die mit dem Peptid mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 vorbehandelt waren.

Dabei zeigten zytotoxische T-Zellen, die in Gegenwart des PAN-HLA-DR-bindenden Peptides induziert wurden, eine höhere zytotoxische Aktivität als solche, die in Abwesenheit dieses Peptides induziert wurden.

Beispiel 2      Lyse von Tumorzellen durch MUC-1-Peptid spezifische zytotoxische T-Zellen

Verschiedene Tumorzelllinien, die wie durch FACS-Analyse nachgewiesen entweder sowohl HLA-A2 als auch MUC-1 oder jeweils nur eines der beiden Zelloberflächenmoleküle exprimieren, wurden mit  $^{51}\text{Cr}$  markiert, wie es unter 1.4 für T2-Zellen beschrieben wurde. Anschließend wurden die Zellen, wie ebenfalls unter 1.4 beschrieben, mit zytotoxischen T-Zellen inkubiert, die wie unter 1.3 beschrieben, induziert wurden.

Diejenigen T-Zellen, die unter Verwendung der Peptide mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 oder der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 aktiviert wurden, waren in der Lage, Tumorzellen der Linien MCF-7 (Brustkrebszellen), A-498 (Nierenzellkarzinomzellen) und MZ1774-RCC (Nierenzellkarzinomzellen), die HLA-A2 und MUC-1 ex-

primieren, zu lysieren. Sie konnten jedoch keine Zellen der Zelllinien Croft (EBV-immortalisierte B-Zellen), die kein MUC-1 exprimieren, sowie Caki-2 (Nierenzellkarzinomzellen), SK-OV-3 (Eierstockkrebszellen) und K562 (proerythroblastische Zellen), die kein HLA-A2 exprimieren, lysieren.

Ebensowenig konnten die unter Verwendung der Peptide mit der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 und SEQ ID-Nr.: 2 aktivierten zytotoxischen T-Zellen die HLA-A2- und MUC-1-exprimierenden Nierenzellkarzinomzellen der Linie MZ1774-RCC lysieren, wenn die Nierenzellkarzinomzellen zuvor 30 Minuten lang mit 10 µg/ml eines gegen HLA-A2 gerichteten monoklonalen Antikörpers (BB7.2, Coulter-Immunotech) inkubiert wurden.

Diese Ergebnisse zeigen, daß die unter Verwendung der erfindungsgemäßen Peptide generierten zytotoxischen T-Zellen nur Tumorzellen abtöten, die sowohl HLA-A2 als auch MUC-1 exprimieren.

Die erfindungsgemäßen Peptide sind somit dazu geeignet, auch im Rahmen einer Therapie eine Immunreaktion gegen bestimmte Tumorzellen auszulösen.

Erste Studien, bei denen eine derartige Therapie bei zwei Patientinnen mit Brustkrebs angewandt wurde, und bei denen die Patientinnen auf die Immun-Therapie angesprochen haben, stehen kurz vor dem Abschluß.

Patentansprüche

1. Peptid, das von dem MUC-1-Gen abgeleitet ist, und durch das eine HLA-A2-restringierte Immunreaktion gegen Tumorzellen auslösbar ist, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID-Nr.: 1:

Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val,

und/oder eine Sequenz, die sich von dem Signalpeptid ableitet, insbesondere die Sequenz SEQ ID-Nr.: 2:

Leu Leu Leu Leu Thr Val Leu Thr Val,

und/oder

eine modifizierte Form der Sequenz SEQ ID-Nr.: 1 und/oder der Sequenz SEQ ID-Nr.: 2 aufweist.

2. Nukleinsäure, die einen Sequenzabschnitt umfaßt, der für ein Peptid nach Anspruch 1 codiert.
3. Nukleinsäure nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäure Sequenzen aufweist, die zur Expression der dem Peptid entsprechenden Nukleinsäuresequenz notwendig sind.

4. Nukleinsäure nach Anspruch 2 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Nukleinsäure in einem Vektor enthalten ist, der geeignet ist, die Expression der dem Peptid entsprechenden Nukleinsäuresequenz in einer Zelle zu ermöglichen.
5. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Peptid und/oder eine Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 1 bis 4 in einer eine MHC-I-restringierte Immunantwort auslösenden wirksamen Menge enthält.
6. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 3 bis 5 im Rahmen einer Gentherapie.
7. Verwendung einer Nukleinsäure nach einem der Ansprüche 3 bis 5 zur Transformation oder Transfektion von Zellen in vitro.
8. Verwendung mindestens eines Peptides oder einer Nukleinsäure nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Auslösung einer Immunreaktion im Zusammenhang mit einer Tumorthherapie oder mit einer gegenüber der Entstehung eines Tumors vorbeugenden Behandlung.
9. Verwendung mindestens eines der Peptide oder einer Nukleinsäure nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 in Kombination mit einem Pan-HLA-DR-bindenden Peptid.
10. Verwendung nach Anspruch 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eines der Peptide oder eine der Nukleinsäuren zusammen mit Antigen-präsentierenden Zellen, insbesondere dendritischen Zellen, inkubiert und erst dann in ei-

nen Organismus eingebracht wird, aus dem die Antigen-präsentierenden Zellen oder deren Vorläuferzellen zuvor entnommen wurden.

## SEQUENZPROTOKOLL

<110> Eberhard-Karls-Universitaet Tuebingen

<120> Peptid zur Auslösung einer Immunreaktion gegen  
Tumorzellen

<130> 5402P168

<140>

<141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment aus  
dem durch das Gen MUC-1 codierten Protein des  
Menschen

<400> 1

Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val



<210> 2

<211> 9

<212> PRT

<213> Künstliche Sequenz

<220>

<223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Fragment aus  
dem durch das Gen MUC-1 codierten Protein des  
Menschen

<400> 2

Leu Leu Leu Leu Thr Val Leu Thr Val

1

5

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.

P 00/02699

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C12N15/11 C07K14/47 A61K48/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C12N C07K A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, BIOSIS, WPI Data, EPO-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 50527 A (BIOMIRA INC.) 12 November 1998 (1998-11-12) the whole document	1-10
A	DE 195 16 673 A (DR G PECHER) 31 October 1996 (1996-10-31) the whole document	1-10
X	WO 97 11715 A (THE AUSTIN RESEARCH INSTITUTE) 3 April 1997 (1997-04-03) the whole document	1-10
P,X	WO 00 06723 A (YEDA RESEARCH & BIO-TECHNOLGY GENERAL CORPORATION) 10 February 2000 (2000-02-10) example 4	1-10
	-/-	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

## \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"A" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

14 September 2000

Date of mailing of the international search report

02/10/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Masturzo, P

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l Application No

P 00/02699

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,X	<p>P BROSSART ET AL.: "Identification of HLA-A2-restricted T-cell epitopes derived from the MUC1 tumor antigen for broadly applicable vaccine therapies" BLOOD., vol. 93, no. 12, 15 June 1999 (1999-06-15), pages 4309-4317, XP002147432 W.B.SAUNDERS COMPAGNY, ORLANDO, FL., US ISSN: 0006-4971 the whole document</p>	1-10

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

/EP 00/02699

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9850527	A	12-11-1998	AU 7371298 A EP 0986636 A	27-11-1998 22-03-2000
DE 19516673	A	31-10-1996	NONE	
WO 9711715	A	03-04-1997	AU 7079396 A AU 707223 B AU 7079496 A WO 9711963 A CA 2233447 A EP 0859627 A JP 2000506493 T	17-04-1997 08-07-1999 17-04-1997 03-04-1997 03-04-1997 26-08-1998 30-05-2000
WO 0006723	A	10-02-2000	AU 5062999 A	21-02-2000

## A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 7 C12N15/11 C07K14/47 A61K48/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 C12N C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, BIOSIS, WPI Data, EPO-Internal

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 50527 A (BIOMIRA INC.) 12. November 1998 (1998-11-12) das ganze Dokument	1-10
A	DE 195 16 673 A (DR G PECHER) 31. Oktober 1996 (1996-10-31) das ganze Dokument	1-10
X	WO 97 11715 A (THE AUSTIN RESEARCH INSTITUTE) 3. April 1997 (1997-04-03) das ganze Dokument	1-10
P, X	WO 00 06723 A (YEDA RESEARCH & BIO-TECHNOLOGY GENERAL CORPORATION) 10. Februar 2000 (2000-02-10) Beispiel 4	1-10
	— / —	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

\*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

\*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

\*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

\*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

\*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. September 2000

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

02/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Masturzo, P

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,X	<p>P BROSSART ET AL.: "Identification of HLA-A2-restricted T-cell epitopes derived from the MUC1 tumor antigen for broadly applicable vaccine therapies"</p> <p>BLOOD., Bd. 93, Nr. 12, 15. Juni 1999 (1999-06-15), Seiten 4309-4317, XP002147432 W.B.SAUNDERS COMPAGNY, ORLANDO, FL., US ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument</p>	1-10

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichung: [ ] zur selben Patentfamilie gehören

ionales Aktenzeichen

PCT/EP 00/02699

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9850527 A	12-11-1998	AU 7371298 A EP 0986636 A	27-11-1998 22-03-2000
DE 19516673 A	31-10-1996	KEINE	
WO 9711715 A	03-04-1997	AU 7079396 A AU 707223 B AU 7079496 A WO 9711963 A CA 2233447 A EP 0859627 A JP 2000506493 T	17-04-1997 08-07-1999 17-04-1997 03-04-1997 03-04-1997 26-08-1998 30-05-2000
WO 0006723 A	10-02-2000	AU 5062999 A	21-02-2000

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

10/019513

Absender: MIT DER INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNG BEAUFTRAGTE BEHÖRDE

PCT

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERSENDUNG  
DES INTERNATIONALEN VORLÄUFIGEN  
PRÜFUNGSBERICHTS  
(Regel 71.1 PCT)

An:	
Otten, Hajo	
WITTE, WELLER & PARTNER	
Postfach 105462	
D-70047 Stuttgart	
ALLEMAGNE	Patentanwälte
30 Juli 2001	
Frist	notiert

Absendedatum (Tag/Monat/Jahr)	27.07.2001
----------------------------------	------------

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 5402P168WO HO/sw
---

<b>WICHTIGE MITTEILUNG</b>
----------------------------

Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/02699	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 28/03/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 16/04/1999
--	---	--

Anmelder EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKL
--

1. Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß ihm die mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde hiermit den zu der internationalen Anmeldung erstellten internationalen vorläufigen Prüfungsbericht, gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen, übermittelt.
  
2. Eine Kopie des Berichts wird - gegebenenfalls mit den dazugehörigen Anlagen - dem Internationalen Büro zur Weiterleitung an alle ausgewählten Ämter übermittelt.
  
3. Auf Wunsch eines ausgewählten Amtes wird das Internationale Büro eine Übersetzung des Berichts (jedoch nicht der Anlagen) ins Englische anfertigen und diesem Amt übermitteln.

#### 4. ERINNERUNG

Zum Eintritt in die nationale Phase hat der Anmelder vor jedem ausgewählten Amt innerhalb von 30 Monaten ab dem Prioritätsdatum (oder in manchen Ämtern noch später) bestimmte Handlungen (Einreichung von Übersetzungen und Entrichtung nationaler Gebühren) vorzunehmen (Artikel 39 (1)) (siehe auch die durch das Internationale Büro im Formblatt PCT/IB/301 übermittelte Information).

Ist einem ausgewählten Amt eine Übersetzung der internationalen Anmeldung zu übermitteln, so muß diese Übersetzung auch Übersetzungen aller Anlagen zum internationalen vorläufigen Prüfungsbericht enthalten. Es ist Aufgabe des Anmelders, solche Übersetzungen anzufertigen und den betroffenen ausgewählten Ämtern direkt zuzuleiten.

Weitere Einzelheiten zu den maßgebenden Fristen und Erfordernissen der ausgewählten Ämter sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

Name und Postanschrift der mit der internationalen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2 NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl Fax: +31 70 340 - 3016	Bevollmächtigter Bediensteter  Cardenas, C  Tel. +31 70 340-3370
--	--





# PCT

## INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>5402P168WO HO/sw</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP00/02699</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>28/03/2000</b>	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>16/04/1999</b>
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK <b>C12N15/11</b>		
Anmelder <b>EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKL</b>		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
  - ☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt 2 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:
  - I    ☒ Grundlage des Berichts
  - II   ☐ Priorität
  - III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
  - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
  - V    ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
  - VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
  - VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
  - VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  <b>13/10/2000</b>	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  <b>27.07.2001</b>
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:  <div style="display: flex; align-items: center;"> <div>             Europäisches Patentamt - P.B. 5818 Patentlaan 2              NL-2280 HV Rijswijk - Pays Bas              Tel. +31 70 340 - 2040 Tx: 31 651 epo nl              Fax: +31 70 340 - 3016           </div> </div>	Bevollmächtigter Bediensteter  <b>Masturzo, P</b>  Tel. Nr. +31 70 340 2275



**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-19                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-11                      eingegangen am                      30/05/2001    mit Schreiben vom    28/05/2001

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung,                      Seiten:
- ☐ Ansprüche,                      Nr.:
- ☐ Zeichnungen,                      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-11
	Nein: Ansprüche	
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-6
	Nein: Ansprüche	7-11

2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
siehe Beiblatt

Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: WO-A-9850527 (Biomira):

D2: WO-A-9711715 (Austin Research Institute).

**Betr. Punkt V**

1) Die vom Anmelder eingereichte gegenstreitige Argumente sind überzeugend. Deswegen werden die neuen Ansprüche 1-11 als neu laut Art 33(2) PCT anerkannt.

2) Wenn man als objektiv zu lösende Aufgabe der vorliegenden Anmeldung die Bereitung neuer Peptide aus dem Antigen MUC-1 betrachtet, muß man D1 und D2 als nächstliegender Stand der Technik betrachten. Der Anmelder hat funktionelle Versuche eingereicht, wovon man beobachten kann, daß die Peptide des Anspruchs 1 in der Tat bei der Aufregung der T-Zellen wirksam sind. Da die Struktur der Peptide von Ansprüchen 1 und 2 im Stand der Technik weder erwähnt noch hingedeutet wird, kann eine erfinderische Tätigkeit laut Art. 33(3) PCT für Ansprüche 1-11 anerkannt werden.

3) Für die Beurteilung der Frage, ob die Gegenstände der vorliegenden Ansprüche 7-11 gewerblich anwendbar sind, gibt es in den PCT-Vertragsstaaten keine einheitlichen Kriterien. Die Patentierbarkeit kann auch von der Formulierung der Ansprüche abhängen. Das EPA beispielsweise erkennt den Gegenstand von Ansprüchen, die auf die medizinische Anwendung einer Verbindung gerichtet sind, nicht als gewerblich anwendbar an; es können jedoch Ansprüche zugelassen werden, die auf eine bekannte Verbindung zur erstmaligen medizinischen Anwendung und die Verwendung einer solchen Verbindung zur Herstellung eines Arzneimittels für eine neue medizinische Anwendung gerichtet sind.

**Betr. Punkt VI**

Patent  
WO-A-0006723

Veröffentlicht  
10-2-2000

Prioritätsdatum  
30-7-1998

Betr. Punkt VIII

Der Anmelder hat die laut Art. 6 und Regel 6 PCT beanstandeten Ausdrücke gestrichen. Daher werden Ansprüche 1-11 laut Art. 6 und Regel 6 PCT als deutlich und zulässig anerkannt.

10/019513  
JC13 Rec'd PCT/PTC 16 OCT 2001Patentansprüche

1. Peptid, dadurch gekennzeichnet, daß es die Sequenz SEQ ID-Nr.: 1:

Ser Thr Ala Pro Pro Val His Asn Val

aufweist.

2. Peptid, das von dem MUC-1-Gen abgeleitet ist, dadurch gekennzeichnet, daß es sich von dem Signalpeptid ableitet, insbesondere die Sequenz SEQ ID-Nr.: 2:

Leu Leu Leu Leu Thr Val Leu Thr Val

aufweist.

3. Nukleinsäure, codierend für ein Peptid nach Anspruch 1 und/oder Anspruch 2.
4. Nukleinsäure nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß sie in einem Expressionsvektor enthalten ist.

5. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Peptid nach Anspruch 1 oder 2 oder eine Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 enthält.
6. Pharmazeutische Zusammensetzung, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein Peptid nach Anspruch 1 oder 2 und eine Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 enthält.
7. Verwendung einer Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 im Rahmen einer Gentherapie.
8. Verwendung einer Nukleinsäure nach Anspruch 3 oder 4 zur Transformation oder Transfektion von Zellen *in vitro*.
9. Verwendung mindestens eines Peptides oder einer Nukleinsäure nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4 zur Auslösung einer Immunreaktion im Zusammenhang mit einer Tumorthherapie oder mit einer gegenüber der Entstehung eines Tumors vorbeugenden Behandlung.
10. Verwendung nach einem oder mehreren der Ansprüche 7 bis 9 in Kombination mit einem Pan-HLA-DR-bindenden Peptid.
11. Verwendung nach Anspruch 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens eines der Peptide oder eine der Nukleinsäuren zusammen mit Antigen-präsentierenden Zellen, insbesondere dendritischen Zellen, inkubiert und erst dann in einen Organismus eingebracht wird, aus dem die Antigen-präsentierenden Zellen oder deren Vorläuferzellen zuvor entnommen wurden.

# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

10/019513

Absender: INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

**PCT**

An

WITTE, WELLER & PARTNER  
z.H. Otten, Hajo  
Postfach 105462  
D-70047 Stuttgart  
GERMANY

MITTEILUNG ÜBER DIE ÜBERMITTLUNG DES  
INTERNATIONALEN RECHERCHENBERICHTS  
ODER DER ERKLÄRUNG

(Regel 44.1 PCT)

02.12.2000

SW/pcl

Absenddatum  
(Tag/Monat/Jahr)

02/10/2000

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts

5402P168W0 HO/pd

**WEITERES VORGEHEN**

siehe Punkte 1 und 4 unten

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/02699

Internationales Anmeldedatum

(Tag/Monat/Jahr)

28/03/2000

Anmelder

EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKL

1. ☒ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß der internationale Recherchenbericht erstellt wurde und ihm hiermit übermittelt wird.

**Einreichung von Änderungen und einer Erklärung nach Artikel 19:**

Der Anmelder kann auf eigenen Wunsch die Ansprüche der internationalen Anmeldung ändern (siehe Regel 46):

**Bis wann sind Änderungen einzureichen?**

Die Frist zur Einreichung solcher Änderungen beträgt üblicherweise zwei Monate ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts; weitere Einzelheiten sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

**Wo sind Änderungen einzureichen?**

Unmittelbar beim Internationalen Büro der WIPO, 34, CHEMIN des Colombettes, CH-1211 Genf 20,  
Telefaxnr.: (41-22) 740.14.35

**Nähere Hinweise** sind den Anmerkungen auf dem Beiblatt zu entnehmen.

2. ☐ Dem Anmelder wird mitgeteilt, daß kein internationaler Recherchenbericht erstellt wird und daß ihm hiermit die Erklärung nach Artikel 17(2)a) übermittelt wird.
3. ☐ **Hinsichtlich des Widerspruchs** gegen die Entrichtung einer zusätzlichen Gebühr (zusätzlicher Gebühren) nach Regel 40.2 wird dem Anmelder mitgeteilt, daß
- ☐ der Widerspruch und die Entscheidung hierüber zusammen mit seinem Antrag auf Übermittlung des Wortlauts sowohl des Widerspruchs als auch der Entscheidung hierüber an die Bestimmungsbüro dem Internationalen Büro übermittelt worden sind.
- ☐ noch keine Entscheidung über den Widerspruch vorliegt; der Anmelder wird benachrichtigt, sobald eine Entscheidung getroffen wurde.

4. **Weiteres Vorgehen:** Der Anmelder wird auf folgendes aufmerksam gemacht:

Kurz nach Ablauf von **18 Monaten** seit dem Prioritätsdatum wird die internationale Anmeldung vom Internationalen Büro veröffentlicht. Will der Anmelder die Veröffentlichung verhindern oder auf einen späteren Zeitpunkt verschieben, so muß gemäß Regel 90<sup>bis</sup> bzw. 90<sup>ter</sup> vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung eine Erklärung über die Zurücknahme der internationalen Anmeldung oder des Prioritätsanspruchs beim Internationalen Büro eingehen.

Innerhalb von **19 Monaten** seit dem Prioritätsdatum ist ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung einzureichen, wenn der Anmelder den Eintritt in die nationale Phase bis zu 30 Monaten seit dem Prioritätsdatum (in manchen Ämtern sogar noch länger) verschieben möchte.

Innerhalb von **20 Monaten** seit dem Prioritätsdatum muß der Anmelder die für den Eintritt in die nationale Phase vorgeschriebenen Handlungen vor allen Bestimmungsbüro vornehmen, die nicht innerhalb von 19 Monaten seit dem Prioritätsdatum in der Anmeldung oder einer nachträglichen Auswahlerklärung ausgewählt wurden oder nicht ausgewählt werden konnten, da für sie Kapitel II des Vertrages nicht verbindlich ist.

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde



Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL-2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Catherine Humbert



## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220

Diese Anmerkungen sollen grundlegende Hinweise zur Einreichung von Änderungen gemäß Artikel 19 geben. Diesen Anmerkungen liegen die Erfordernisse des Vertrags über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens (PCT), der Ausführungsordnung und der Verwaltungsrichtlinien zu diesem Vertrag zugrunde. Bei Abweichungen zwischen diesen Anmerkungen und obengenannten Texten sind letztere maßgebend. Nähere Einzelheiten sind dem PCT-Leitfaden für Anmelder, einer Veröffentlichung der WIPO, zu entnehmen. Die in diesen Anmerkungen verwendeten Begriffe "Artikel", "Regel" und "Abschnitt" beziehen sich jeweils auf die Bestimmungen des PCT-Vertrags, der PCT-Ausführungsordnung bzw. der PCT-Verwaltungsrichtlinien.

### HINWEISE ZU ÄNDERUNGEN GEMÄSS ARTIKEL 19

Nach Erhalt des internationalen Recherchenberichts hat der Anmelder die Möglichkeit, einmal die Ansprüche der internationalen Anmeldung zu ändern. Es ist jedoch zu betonen, daß, da alle Teile der internationalen Anmeldung (Ansprüche, Beschreibung und Zeichnungen) während des internationalen vorläufigen Prüfungsverfahrens geändert werden können, normalerweise keine Notwendigkeit besteht, Änderungen der Ansprüche nach Artikel 19 einzureichen, außer wenn der Anmelder z.B. zum Zwecke eines vorläufigen Schutzes die Veröffentlichung dieser Ansprüche wünscht oder ein anderer Grund für eine Änderung der Ansprüche vor ihrer internationalen Veröffentlichung vorliegt. Weiterhin ist zu beachten, daß ein vorläufiger Schutz nur in einigen Staaten erhältlich ist.

#### Welche Teile der internationalen Anmeldung können geändert werden?

Im Rahmen von Artikel 19 können nur die Ansprüche geändert werden.

In der internationalen Phase können die Ansprüche auch nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert (oder nochmals geändert) werden. Die Beschreibung und die Zeichnungen können nur nach Artikel 34 vor der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde geändert werden.

Beim Eintritt in die nationale Phase können alle Teile der internationalen Anmeldung nach Artikel 28 oder gegebenenfalls Artikel 41 geändert werden.

#### Bis wann sind Änderungen einzureichen?

Innerhalb von zwei Monaten ab der Übermittlung des internationalen Recherchenberichts oder innerhalb von sechzehn Monaten ab dem Prioritätsdatum, je nachdem, welche Frist später abläuft. Die Änderungen gelten jedoch als rechtzeitig eingereicht, wenn sie dem Internationalen Büro nach Ablauf der maßgebenden Frist, aber noch vor Abschluß der technischen Vorbereitungen für die internationale Veröffentlichung (Regel 46.1) zugehen.

#### Wo sind die Änderungen nicht einzureichen?

Die Änderungen können nur beim Internationalen Büro, nicht aber beim Anmeldeamt oder der Internationalen Recherchenbehörde eingereicht werden (Regel 46.2).

Falls ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung eingereicht wurde/wird, siehe unten.

#### In welcher Form können Änderungen erfolgen?

Eine Änderung kann erfolgen durch Streichung eines oder mehrerer ganzer Ansprüche, durch Hinzufügung eines oder mehrerer neuer Ansprüche oder durch Änderung des Wortlauts eines oder mehrerer Ansprüche in der eingereichten Fassung.

Für jedes Anspruchsblatt, das sich aufgrund einer oder mehrerer Änderungen von dem ursprünglich eingereichten Blatt unterscheidet, ist ein Ersatzblatt einzureichen.

Alle Ansprüche, die auf einem Ersatzblatt erscheinen, sind mit arabischen Ziffern zu numerieren. Wird ein Anspruch gestrichen, so brauchen, die anderen Ansprüche nicht neu numeriert zu werden. Im Fall einer Neunummerierung sind die Ansprüche fortlaufend zu numerieren (Verwaltungsrichtlinien, Abschnitt 205 b)).

Die Änderungen sind in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

#### Welche Unterlagen sind den Änderungen beizufügen?

##### Begleitschreiben (Abschnitt 205 b)):

Die Änderungen sind mit einem Begleitschreiben einzureichen.

Das Begleitschreiben wird nicht zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht. Es ist nicht zu verwechseln mit der "Erklärung nach Artikel 19(1)" (siehe unten, "Erklärung nach Artikel 19 (1)").

Das Begleitschreiben ist nach Wahl des Anmelders in englischer oder französischer Sprache abzufassen. Bei englischsprachigen internationalen Anmeldungen ist das Begleitschreiben aber ebenfalls in englischer, bei französischsprachigen internationalen Anmeldungen in französischer Sprache abzufassen.

## ANMERKUNGEN ZU FORMBLATT PCT/ISA/220 (Fortsetzung)

Im Begleitschreiben sind die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen anzugeben. So ist insbesondere zu jedem Anspruch in der internationalen Anmeldung anzugeben (gleichlautende Angaben zu verschiedenen Ansprüchen können zusammengefaßt werden), ob

- i) der Anspruch unverändert ist;
- ii) der Anspruch gestrichen worden ist;
- iii) der Anspruch neu ist;
- iv) der Anspruch einen oder mehrere Ansprüche in der eingereichten Fassung ersetzt;
- v) der Anspruch auf die Teilung eines Anspruchs in der eingereichten Fassung zurückzuführen ist.

Im folgenden sind Beispiele angegeben, wie Änderungen im Begleitschreiben zu erläutern sind:

1. [Wenn anstelle von ursprünglich 48 Ansprüchen nach der Änderung einiger Ansprüche 51 Ansprüche existieren]:  
"Die Ansprüche 1 bis 29, 31, 32, 34, 35, 37 bis 48 werden durch geänderte Ansprüche gleicher Numerierung ersetzt; Ansprüche 30, 33 und 36 unverändert; neue Ansprüche 49 bis 51 hinzugefügt."
2. [Wenn anstelle von ursprünglich 15 Ansprüchen nach der Änderung aller Ansprüche 11 Ansprüche existieren]:  
"Geänderte Ansprüche 1 bis 11 treten an die Stelle der Ansprüche 1 bis 15."
3. [Wenn ursprünglich 14 Ansprüche existierten und die Änderungen darin bestehen, daß einige Ansprüche gestrichen werden und neue Ansprüche hinzugefügt werden]:  
Ansprüche 1 bis 6 und 14 unverändert; Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt. "Oder" Ansprüche 7 bis 13 gestrichen; neue Ansprüche 15, 16 und 17 hinzugefügt; alle übrigen Ansprüche unverändert."
4. [Wenn verschiedene Arten von Änderungen durchgeführt werden]:  
"Ansprüche 1-10 unverändert; Ansprüche 11 bis 13, 18 und 19 gestrichen; Ansprüche 14, 15 und 16 durch geänderten Anspruch 14 ersetzt; Anspruch 17 in geänderte Ansprüche 15, 16 und 17 unterteilt; neue Ansprüche 20 und 21 hinzugefügt."

### "Erklärung nach Artikel 19(1)" (Regel 46.4)

Den Änderungen kann eine Erklärung beigelegt werden, mit der die Änderungen erläutert und ihre Auswirkungen auf die Beschreibung und die Zeichnungen dargelegt werden (die nicht nach Artikel 19 (1) geändert werden können).

Die Erklärung wird zusammen mit der internationalen Anmeldung und den geänderten Ansprüchen veröffentlicht.

Sie ist in der Sprache abzufassen, in der die internationale Anmeldung veröffentlicht wird.

Sie muß kurz gehalten sein und darf, wenn in englischer Sprache abgefaßt oder ins Englische übersetzt, nicht mehr als 500 Wörter umfassen.

Die Erklärung ist nicht zu verwechseln mit dem Begleitschreiben, das auf die Unterschiede zwischen den Ansprüchen in der eingereichten Fassung und den geänderten Ansprüchen hinweist, und ersetzt letzteres nicht. Sie ist auf einem gesonderten Blatt einzureichen und in der Überschrift als solche zu kennzeichnen, vorzugsweise mit den Worten "Erklärung nach Artikel 19 (1)".

Die Erklärung darf keine herabsetzenden Äußerungen über den internationalen Recherchenbericht oder die Bedeutung von in dem Bericht angeführten Veröffentlichungen enthalten. Sie darf auf im internationalen Recherchenbericht angeführte Veröffentlichungen, die sich auf einen bestimmten Anspruch beziehen, nur im Zusammenhang mit einer Änderung dieses Anspruchs Bezug nehmen.

### Auswirkungen eines bereits gestellten Antrags auf internationale vorläufige Prüfung

Ist zum Zeitpunkt der Einreichung von Änderungen nach Artikel 19 bereits ein Antrag auf internationale vorläufige Prüfung gestellt worden, so sollte der Anmelder in seinem Interesse gleichzeitig mit der Einreichung der Änderungen beim Internationalen Büro auch eine Kopie der Änderungen bei der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde einreichen (siehe Regel 62.2 a), erster Satz).

### Auswirkungen von Änderungen hinsichtlich der Übersetzung der internationalen Anmeldung beim Eintritt in die nationale Phase

Der Anmelder wird darauf hingewiesen, daß bei Eintritt in die nationale Phase möglicherweise anstatt oder zusätzlich zu der Übersetzung der Ansprüche in der eingereichten Fassung eine Übersetzung der nach Artikel 19 geänderten Ansprüche an die bestimmten/ausgewählten Ämter zu übermitteln ist.

Nähere Einzelheiten über die Erfordernisse jedes bestimmten/ausgewählten Amtes sind Band II des PCT-Leitfadens für Anmelder zu entnehmen.

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>5402P168W0 H0/pd</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/EP 00/ 02699</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>28/03/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>16/04/1999</b>
Anmelder <b>EBERHARD-KARLS-UNIVERSITÄT TÜBINGEN UNIVERSITÄTSKL</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 4 Blätter.



Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.



Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das



in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.



zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.



bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.



Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.



Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2.



**Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen** (siehe Feld I).

3.



**Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung** (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**PEPTID AUS ANTIGEN MUC-1 ZUR AUSLÖSUNG EINER IMMUNREAKTION GEGEN TUMORZELLEN**

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**



wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.



wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. ---



wie vom Anmelder vorgeschlagen



weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.



weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



keine der Abb.

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSSTANDES  
 IPK 7 C12N15/11 C07K 47/47 A61K48/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

# B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
 IPK 7 C12N C07K A61K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

CHEM ABS Data, BIOSIS, WPI Data, EPO-Internal

# C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
V X	WO 98 50527 A (BIOMIRA INC.) 12. November 1998 (1998-11-12) das ganze Dokument	1-10
A	DE 195 16 673 A (DR G PECHER) 31. Oktober 1996 (1996-10-31) das ganze Dokument	1-10
X	WO 97 11715 A (THE AUSTIN RESEARCH INSTITUTE) 3. April 1997 (1997-04-03) das ganze Dokument	1-10
P, X	WO 00 06723 A (YEDA RESEARCH & BIO-TECHNOLOGY GENERAL CORPORATION) 10. Februar 2000 (2000-02-10) Beispiel 4	1-10
	--- -/-	

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

14. September 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

02/10/2000

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
 Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentaan 2  
 NL - 2280 HV Rijswijk  
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
 Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Beauftragter

Masturzo, P

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGELEGENHEITEN UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P, X	<p>P BROSSART ET AL.: "Identification of HLA-A2-restricted T-cell epitopes derived from the MUC1 tumor antigen for broadly applicable vaccine therapies"</p> <p>BLOOD., Bd. 93, Nr. 12, ✓ 15. Juni 1999 (1999-06-15), Seiten 4309-4317, XP002147432 W.B.SAUNDERS COMPAGNY, ORLANDO, FL., US ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument _____</p>	1-10

## Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich  
Obwohl die Ansprüche 6 und 8-10 (zumindest teilweise) sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers beziehen, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.
2. ☐ Ansprüche Nr.  
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.  
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

## Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☐ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch.

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9850527 A	12-11-1998	AU 7371298 A EP 0986636 A	27-11-1998 22-03-2000
DE 19516673 A	31-10-1996	KEINE	
WO 9711715 A	03-04-1997	AU 7079396 A AU 707223 B AU 7079496 A WO 9711963 A CA 2233447 A EP 0859627 A JP 2000506493 T	17-04-1997 08-07-1999 17-04-1997 03-04-1997 03-04-1997 26-08-1998 30-05-2000
WO 0006723 A	10-02-2000	AU 5062999 A	21-02-2000